대한산부회지 제45권 제1호 2002
Vol. 45 No. 1 January 2002

한국 여성 자궁경부 종양에서의 항산화체계 및 산화적 스트레스

연세대학교 의과대학 산부인과학 교실, 포천 중문의과대학 산부인과학 교실,*
연세대학교 생활과학대학 식품영양학과†
김재욱 · 최은경* · 임재학 · 김영태 · 김동규 · 이양자† · 김수연† · 정혜연†

=ABSTRACT=

Antioxidant System and Oxidative Stress in Uterine Cervical Neoplasia of Korean women

Jae Wook Kim, M.D., Eun Kyoung Choi, M.D.*, Jae Hak Lim, M.D., Young Tae Kim, M.D., Dong Kyu Kim, M.D., Yang Cha Lee-Kim, Ph.D.†, Soo Yeon Kim, Ph.D.†, Hae Yeon Chung, Ph.D.†

Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Yonsei University,
Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, PoChun Cha University, *
Department of Food & Nutrition, Yonsei University †

Objectives : The purpose of this study was to compare the plasma levels of antioxidant system and oxidative stress of cervical neoplasia patients to normal control, and to investigate the relationship between the plasma antioxidant system and various clinicopathological factors of cervical cancer.

Patients and Methods : A cross-sectional sample of 90 cervical neoplasia patients and 90 normal control group was recruited from Nov. 2000 to Jan. 2001 at Yonsei University Medical Center. As the parameter of lipid peroxidation, plasma concentrations of malondialdehyde (MDA) was spectrophotomerically measured. Plasma levels of antioxidant vitamins were analyzed by reverse-phase high pressure liquid chromatography (HPLC), and glutathione peroxidase (GSH-Px) activity was measured by coupled enzyme procedure. The correlation between the results and various clinicopathological factors of cervical cancer were evaluated.

Results : In women with cervical neoplasia, the activity of GSH-Px and plasma levels of antioxidant vitamins such as lutein, β-carotene, lycopene and zeaxanthin were significantly lower compared to normal control, while the concentration of MDA was significantly higher. However, between CIN and cervical cancer, only the levels of α-tocopherol and MDA showed significant differences. The changes in plasma antioxidant system showed no significant correlation with the prognostic factors of cervical cancer.

Conclusions : These findings suggest a potential role of oxidative stress-induced lipid peroxidation and the impairment of antioxidant system in the pathogenesis of cervical neoplasia. However, these changes failed to define a causal relationship between the antioxidant system and disease outcome, or to show a significant correlation between several antioxidant parameters and the prognostic factors of cervical cancer.

Key Words : cervical neoplasia, antioxidant system, oxidative stress

접수일 : 2001. 11. 26.
주관책임자 : 김재욱

* 본 연구는 연세의대 일반교수 연구비에 의해 이루어졌음.

자궁경부암은 우리나라에서 가장 흔한 여성 생식기 암이며 전체 여성의 암 중에서 약 12%를 차지하는 중요한 종양으로 1999년 보건복지부 중앙 암 등록 사업 연례 보고서에 의하면 1년에 약 4,000명의 새로운 환자가 발생하고 있는 국민보건상 매우 중요한 질병이다.[1]

현재 자궁경부암의 발생에 관해서는 인유두종 바이러스에 의한 성적 접촉성 감염질환 모델이 가장 널리 인정되고 있으나,[2] 이의 발생과 진행에는 흡연이나 영양상태 등의 여러 가지 인자들이 개입되는 것으로 믿어지고 있다. 대체로 자궁경부암은 사회경제적으로 낮은 계층 및 개발도상국에서 더 많이 발생하는 것으로 알려져 있으며 비타민 A, 카로틴, 엽산, 비타민 C 등이 자궁경부암의 발생에 있어서 보호적인 역할을 한다는 주장이 단편적으로 제기되어 왔으나 주목을 받지 못하던 중 최근 들어 산화스트레스 및 항산화 영양소에 대한 관심이 높아지면서 이 분야의 연구가 활기를 띠게 되었다.[3]

인체 내에서는 일생을 통해 끊임없이 반응력이 큰 활성 산소화합물 (reactive oxygen species, ROS) 혹은 활성 질소화합물 (reactive nitrogen species, RNS)이 불가피하게 생성되고 이들은 세포내의 DNA나 기타 핵산 등과 반응하여 산화적 손상 및 변이를 유발함으로써 종양의 발생에 관여하는 치명적인 돌연변이를 야기할 수 있는 것으로 알려졌다. 이러한 산화촉진물 (pro-oxidants)에 반해 항산화 비타민, 무기질 및 효소 등의 항산화 시스템은 세포내의 산화 억제물질 (antioxidants)로 작용하여 산화촉진물질을 제거하는 스캐빈저 역할을 하여 핵산의 산화적 손상을 방지하며 나아가 이를 통해 종양의 발생을 낮추는 것으로 보고되고 있다.[3-6]

개발도상국이나 빈곤계층에서 자궁경부암의 발생 빈도가 높은 것은 아마도 식이내 지방의 양, 지용성 비타민의 섭취 및 흡수량과 관계 있는 것으로 보이며 1999년 Nagata 등이 156명의 일본여성을 대상으로한 연구에서 혈장내 알파 카로틴이 자궁경부 상피내종양에 대해 보호적 효과를 가진다고 한 것은 우리와 식이습관이나 인종 및 DNA구조가 유사한 일본여성에 대한 연구로서 어느 정도 참고할 가치가 있다고 본다.[4]

그러나 아직까지 한국 여성을 대상으로 한 자궁경부암 환자에서의 혈중 항산화 비타민, 항산화 효소 작용 등의 항산화체계에 대한 연구는 학계에 보고된 바 없으며 이것이 정상 여성의 수치와 어떻게 다른지, 나아가 이들이 자궁경부 상피내 종양의 진행이나 침윤성 자궁경부암의 예후와 어떤 관계를 가지는지에 대해서는 연구된 바 없었다.

이에 자궁경부 상피내종양과 침윤성 자궁경부암 환자에서 혈장내 항산화체계의 상태를 확인하여 정상여성에서의 경우와 차이가 있는지 조사하고 또한 자궁경부암 환자에서의 임상적 예후인자와는 어떻게 관련이 되는지 연관시켜봄으로써 영양적, 식이적 요소가 자궁경부 신생물의 발생 및 진행과정에 미치는 영향을 살펴보고 추후 이를 하나의 예후 예측인자로서 임상에 응용할 수 있을 것인지 여부를 평가하고자 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

2000년 11월 1일부터 2001년 1월 31일까지 연세대학교 의과대학 부속 세브란스병원 산부인과에서 조직학적 검사를 통해 침윤성 자궁경부암 및 자궁경부 상피내종양으로 진단받은 환자 90명을 대상으로 하였다. 대상 환자들은 모두 질확대경하 자궁경부조직생검에 의해 진단받았으며 침윤성 자궁경부암으로 진단받은 환자들은 이후에 병기결정을 위한 기초검사들을 시행하여 병기를 결정하고 수술 또는 방사선을 통하여 치료하였다. 동일 기간동안 양성 자궁병변으로 자궁적출술을 받은 후 조직학적으로 자궁경부에 이상이 없는 여성 90명의 혈액을 같은 방법으로 채취, 처리하여 대조군으로 하였다.

침윤성 자궁경부암의 여러 예후인자와 항산화체계 및 산화적 스트레스와의 관계를 보기 위하여 본 연구에서는 FIGO stage, 종양크기, 림프절 전이 유무, 및 자궁방조직침윤 유무에 대해서 평가하였고, 이중에서 림프절 전이 유무는 영상진단법 혹은 조직검사 결과로 확인하였다.

2. 연구 방법

가. 검체의 분리

대상 환자 및 대조군의 환자들은 모두 공복상태에서 정맥을 통해 채혈하였으며 항산화 영양소의 파괴를 최소화하기 위해 은박지를 이용하여 차광한 상태로 채혈 후 1시간 이내에 원심분리하여 혈장을 분리하였다. 분리된 시료는 -70℃에서 냉동보관 하였다.

나. 항산화 비타민 농도 측정

혈장내의 지용성 항산화 비타민인 α-tocopherol, γ-tocopherol, β-carotene, lycopene, cryptoxanthin, zeaxanthin 및 lutein의 농도를 다음과 같은 방법을 통하여 측정하였다. 200 μL의 혈장에 chloroform과 methanol의 비율이 2:1로 된 용액과 0.9% NaCl을 가한 후 1분간 vortex하여 4℃, 2500 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 이 때 retinyl acetate를 internal standard로 사용하였다. 원심분리 후 chloroform층을 취하여 후드가 장치된 중탕기내에서 nitrogen으로 chloroform을 휘발시키고 동시에 aqueous층은 1 ml의 hexane을 가하여 vortex한 후 4℃, 2500 rpm에서 10분간 원심분리하여 hexane층을 chloroform extract에

더하고 중탕기 내에서 nitrogen으로 휘발하였다. 150 μL ethanol로 재용해시킨 extract 50 μL를 high pressure liquid chromatography (HPLC) system에 주입하였고 수용성 항산화 비타민인 ascorbic acid 분석은 0.75 M metaphosphoric acid로 채혈 당일에 분리한 PRP 혈장의 단백질을 제거한 후 2,4-dinitrophenylhydrazine method를 이용하여 HPLC system으로 분석하였다. 이 모든 실험과정은 자외선이 차단된 상태에서 실시하였다.

① HPLC system

HPLC system은 reverse phase system으로서 2개의 waters 510 pumps (Waters, Milford, MA), WISP 710 autosampler, Waters 991 photodiode array detector, C18 Novapak 3.9×15 cm column (Waters, Milford, MA)으로 구성되고 mobile phase는 solvent A (CH_3CN : THF : d-H_2O= 50: 30: 20)와 solvent B (CH_3CN : THF : d-H_2O= 50: 44: 6)를 이용하였다. Flow rate는 1.2 ml/min이었으며 gradient procedure는 처음 10분 동안은 solvent A에서 solvent B로 100% 전환시키고 그 후 6분 동안 solvent B를 통과시키고 난 후 4분 동안에 solvent A로 100% 전환하였다. 다음 2분 동안 solvent A를 통과시키면서 평형을 유지시켰다. Waters 991 photodiode array detector의 파장을 carotenoid 분석을 위해서는 450 nm, ascorbate 분석을 위해서는 520 nm, 그리고 α-tocopherol, γ-tocoperol 분석을 위해서는 292 nm에서 분석하였다.

② Peak identification

Ascorbate, carotenoids, α-tocopherol, γ-tocopherol의 peak 규명을 위해서는 이들 각각의 표준용액을 HPLC로 분석하여 retention time을 구하고 시료를 주입하였을 때 각각의 retention time에 대응하는 peak를 표준용액을 첨가하여 동일 peak임을 확인하였다.

③ Quantification

혈장의 ascorbate, carotenoids 및 α-tocopherol, γ-tocopherol의 정량을 위해 표준 ascorbate, α-tocoperol, α-tocoperol acetate, γ-tocoperol, γ-tocoperol acetate 및 β-carotene을 동일한 양의 ethanol에 양을 증가시키며 용해시켜 표준용액을 만들었고 각 표준용액을 HPLC system으로 측정하여 표준곡선을 얻었다. 혈장의 각 비타민 양은 HPLC chromatogram의 peak area와 대응되는 standard의 response factor에 의해 계산하고, 혈장으로부터 vitamin의 추출 및 시료의 취급 과정에서 소실되는 양은 internal standard인 tocophenyl acetate의 회수율로 보정하였다.

다. Glutathione peroxidase 활성도 측정

Glutathione peroxidase 활성은 과산화수소를 기질로 이용한 coupled enzyme procedure로 측정하였다. 혈장 20 μL에 증류수를 가하여 100 μL로 채운 후 0.8 ml 반응혼합물 (4,5 mM EDTA), 4.7 mM sodium azide를 포함한 0.125 M phosphate buffer, pH 7.0과 2.8 nM NADPH, 49.9 nM reduced glutathione (GSH)의 형성에 따른 NADPH의 흡광도가 감소되는 속도를 3분 동안 측정하였다. glutathione peroxidase의 존재 하에 H_2O_2의 첨가에 의하여 glutathione (GSSG)이 생성되고 reaction mixture내 glutathione reductase와 NADPH가 개입되어 GSSG가 다시 GSH로 환원되는 속도를 흡광도의 변화를 통해서 관찰함으로써 glutathione peroxidase의 활성이 산출되었다. 효소 1 unit은 혈장 1 ml 당 1분 동안 산화된 NADPH의 nM로 나타내었고, specific activity는 1 mg 단백질에 해당하는 효소 unit로 환산하였다.

라. Lipid peroxidation 정도 (Malondialdehyde 농도) 측정

산화적 스트레스로 인한 지질과산화 정도의 측정을 위해서는 과산화 산물인 혈장 malondialdehyde 농도로 측정하였다. 혈장 50 μL에 1/12N H_2SO_4 4 ml와 10% phosphotungstic acid 0.5 ml을 가하여 혼합한 후, 실온에서 5분간 방치하였다. 이 혼합액을 원심분리 (4000 rpm, 10 min) 후 그 침전물에 다시 1/12N H_2SO_4 2 ml와 10% phosphotungstic acid 0.3 ml를 가하여 강하게 저은 후 이 혼합액을 다시 원심분리 (4000 rpm, 10 min) 하여 그 침전물에 증류수 5 ml와 1% thiobarbituric acid 2 ml를 가한 후 90-95℃에서 20분간 항온배양하였다. 이를 냉각시킨 후 n-butanol 5 ml를 가해 1분간 잘 섞은 뒤 원심분리 (4000 rpm, 10 min) 하여 상층의 butanol층을 fluorecent spectrometer (Amico Bowman Series)를 이용하여 형광강도를 측정한 후 표준용액과 비교하여 비색정량하였다.

3. 통계학적 분석

통계학적 분석을 위하여 SPSS 9.0 for windows 프로그램을 사용하였고 대조군 및 자궁경부 상피내 종양 환자군, 침윤성 자궁경부암 환자군간의 항산화효소 및 비타민 농도의 차이를 검정하기 위하여 independent samples t-test를 적용하였으며 침윤성 자궁경부암의 예후인자와의 관계를 검정하기 위하여 one way ANOVA test 및 independent samples t-test를 적용하였다. 검정은 양측검정을 원칙으로 하였으며 $p<0.05$ 인 경우에 통계학적으로 의미 있다고 판단하였다.

결 과

1. 대상환자군의 특성

대상 환자 90명과 정상대조군 90명으로 실험을 진행하였다. 대상환자 중 침윤성 자궁경부암 환자는 37명, 자

궁경부 상피내 종양 환자는 53명이었다. 대조군의 평균 나이는 35.6세, 자궁경부 상피내 종양 환자군의 평균 나이는 46.5세, 침윤성 자궁경부암 환자군의 평균 나이는 53.7세로 두 군 사이에는 통계학적으로 유의한 차이가 있었다 (p=0.0000). 따라서, 모든 측정값은 연령으로 보정한 후 제시하였다.

침윤성 자궁경부암 환자 중 병기 Ia 및 Ib의 환자가 13명, IIa 및 IIb의 환자가 18명, III 및 IV의 환자가 6명이었으며 종양크기가 4 cm 이상인 경우가 13명, 경우가 24명, 림프절 전이 양성인 경우가 19명, 경우가 18명이었고 자궁방 조직 침윤 양성인 명, 음성인 경우가 16명이었다.

2. 혈장 항산화 비타민 농도

대조군과 자궁경부 상피내 종양 환자군 사 lutein (p=0.003), β-carotene (p=0.018), lycopene zeaxanthine (p=0.000)이 통계학적으로 유의한 감 였으며 대조군과 침윤성 자궁경부암 환자군 사 lutein (p=0.008), β-carotene (p=0.000), lycopene zeaxanthin (p=0.000) 및 γ-tocopherol (p=0.039)으 통계학적으로 유의한 감소치를 보였다. 특히, α 은 자궁경부 상피내 종양과 침윤성 자궁경부암 환자군 사이에서는 통계학적으로 의미 있는 감소치를 보였다 (p=0.026). Ascorbate의 경우는 정상 대조군에 비해, 자궁경부 상피내 종양 환자군, 침윤성 자궁경부암 환자군에서 감소하는 경향이 있었으나 유의한 차이는 보이지 않았다 (Table 1).

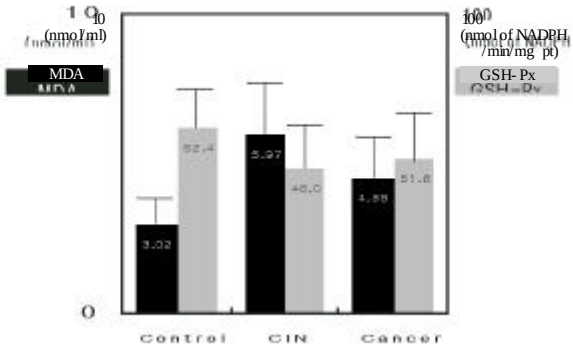
Table 1. Plasma antioxidant vitamin levels in controls and women with CIN and invasive cervical cancer.

	Control (n=90)†	CIN (n=53)†	Cancer (n=37)†
Lutein (μg/dl)	37.63±16.521	22.95±10.252*	24.23±9.87*
β-carotene (μg/dl)	49.59±22.28	36.20±16.982*	33.29±11.12*
Lycopene (μg/dl)	7.05±4.58	2.96±2.092*	2.45±2.802*
Cryptoxanthin (μg/dl)	51.0±18.12	53.37±24.89	48.3±13.86
Zeaxanthin (μg/dl)	15.07±6.26	7.86±4.382*	7.53±3.782*
α-tocopherol (μg/ml)	7.62±1.78	6.28±2.573**	8.08±2.803**
γ-tocopherol (μg/ml)	1.04±0.42	0.83±0.46	0.79±0.362*
Ascorbate (μg/dl)	12.33±1.89	11.55±3.04	11.48±2.410

† Mean±SD
* p<0.05 Control vs CIN, Control vs Cancer (by the independent samples t-test)
** p<0.05 CIN vs Cancer (by the independent samples t-test)

3. Glutathione peroxidase 활성

항산화 효소인 glutathione peroxidase의 활성도를 대조군과 자궁경부 상피내 종양 및 침윤성 자궁경부암 환자에서 비교해 보았다. (Fig. 1) Glutathione peroxidase의 경우에, 대조군의 평균 혈장 농도는 62.40±16.00 (nmol of NADPH/min/mg pt), 자궁경부 상피내 종양 환자군의 경우 48.02±22.81 (nmol of NADPH/min/mg pt), 침윤성 자궁경부암 환자군의 경우 51.18±11.48 (nmol of NADPH/min/mg pt)로 대조군과 자궁경부 상피내 종양 환자군, (p=0.003) 대조군과 침윤성 자궁경부암 환자군의 경우는 (p=0.009) 통계학적으로 유의한 차이를 보였으나 자궁경부 상피내 종양 환자군과 침윤성 자궁경부암 환자군의 사이에서는 유의한 차이를 보이지 않았다 (p=0.753).



Control vs CIN, P=0.000, 0.003 in MDA, GSH-Px
Control vs Cancer, P=0.003, 0.009 in MDA, GSH-Px
CIN vs Cancer, P=0.005, 0.753 in MDA, GSH-Px

Figure 1. Comparison of glutathione peroxidase (GSH-Px) and malondialdehye (MDA) concentration in control, CIN and invasive cervical cancer

4. Lipid peroxidation

산화 스트레스로 인한 지질 과산화 정도를 과산화 산물인 혈장 malondialdehyde 농도로 측정한 결과 대조군의 평균 혈장 농도는 3.02±1.16 (nmol/ml), 자궁경부 상피내 종양 환자군의 평균 혈장 농도는 5.96±2.01 (nmol/ml), 침윤성 자궁경부암 환자군의 평균 혈장 농도는 4.56±2.10 (nmol/ml)로 대조군에 비해 자궁경부 상피내종양 (p=0.000) 및 침윤성 자궁경부암의 환자에서 (p=0.003) 통계적으로 의의있게 높았으며, 침윤성 자궁경부암보다 자궁경부 상피내종양의 환자에 있어서 유의하게 높은치를 보였다. (Fig. 1) (p=0.005)

5. 침윤성 자궁경부암의 예후인자와 혈장 항산화 비타민, glutathione peroxidase 활성 및 malondialdehyde 농도와의 관련성

침윤성 자궁경부암의 예후인자 중 환자의 병기, 병변의 크기, 림프절 전이 및 자궁방 결합조직에의 침윤 등 4가지 인자를 혈장 항산화 비타민 농도, glutathione peroxidase 활성 및 malondialdehyde 농도와 연관시켜 보았다. (Table 2, 3) 병변의 크기에서는 lycopene, zeaxanthin,

Table 2. Correlation between level of plasm antioxidant system & lipid peroxidation and prognostic factors of invasive cervical cancer. (Ⅰ)

Prognostic factors	No. of cases	Carotenoids (mean±S.D) (μg/dl)				
		Lutein	Lycopene	Zezxanthin	Cryptoxanthin	β-carotene
Stage						
I	13	26.72± 10.53	2.73± 1.95	8.48±3.81	54.63± 18.59	31.77± 10.93
II	18	21.81±8.69	1.88± 1.54	6.22±2.08	44.45± 10.75	28.99±8.23
III-IV	6	26. 10±9. 16	3.53±3.05	9.37±3.26	47. 17±7.38	51.74± 14.21
Tumor size						
<4 cm	24	23.95±8.67	2.57±2.42	7.54±3.92	47.00± 15.68	33.28± 11.86
≥4 cm	13	24.33±9.35	2.29±2.86	7.46±3.23	50.70± 10.29	33.03± 12. 14
Lymph node metastasis						
negative	18	25.42±9. 15	2.04±2.60	7.27±2.91	48.84± 14.67	35.98± 10.09
positive	19	23. 15±8. 11	2.85±2.62	7.76±3.39	48.00± 10.03	30.48± 11.52
Parametrial Involvement						
negative	16	25.24±9.66	2.63±2.63	7.84±3.66	51.28± 14.91	33.86± 10.96
positive	21	23.51± 10.88	2.31±23.82	7.24±2.69	46.04± 10.56	32.63± 12.72

None of the levels of vitamins failed to show statistically significant correlation with the various prognostic factors of cervical cancer

Table 3. Correlation between level of plasma antioxidant system & lipid peroxidation and prognostic factors of invasive cervical cancer. (Ⅱ)

Prognostic factors	No. of cases	Tocopherol (mean±S.D) (μg/ml)		Ascordate (mean±S.D) (μg/dl)	GSXPX (mean±S.D) nmol of NADPH/min/mg pt	MDA (mean±S.D) (nmol/ml)
		α-tocoperd	γ-tocoperd			
Stage						
I	13	8.04±3.06	0.74±0.25	11.05±2.66	48.74±8.67	4.95±2.38
II	18	7.93±2.26	0.79±0.28	12.08±2.41	52.42± 13.35	4.47±2.09
III-IV	6	8.65±2.91	0.79±0.64	10.60±2. 18	52.82± 10. 15	3.81±0.05
Tumor size						
<4 cm	24	7.94±2.85	0.74±0.27	11.67±2.33	50.81± 10.63	4.55±2.25
≥4 cm	13	8.27±3.05	0.88±0.44	11.08±2.72	51.90± 12.54	4.56± 1.99
Lymph node metastasis						
negative	18	7.92±2.04	0.72±0.31	12.06±2. 16	50.27±8.35	4.66±2.31
positive	19	8. 19±3. 18	0.85±0.33	10.85±2.66	52.06± 13.8	4.44± 1.92
Parametrial Involvement						
negative	16	8.39±3.01	0.82±0.38	11.75±2.52	49.85± 10.43	4.78±2.39
positive	21	7.79±2.59	0.77±0.31	11.25±2.46	52.21± 13. 15	4.35± 1.79

None of the levels of vitamins failed to show statistically significant correlation with the various prognostic factors of cervical cancer

이, 림프절 전이 유무에서는 lutein, β-carotene, ascorbate 이, 그리고 자궁방 결합조직에의 침윤 유무에서는 lutein, lycopene, zeaxanthin, cryptoxanthin, α-tocoperol, α-tocoperol 의 농도가 불량 예후인자군에서 그 수치가 감소한 것으로 보이나 통계적으로 유의한 연관성을 보이지 않았다.

고 찰

자궁경부암은 전 세계적으로 여성암 중에서 2위, 대부분의 개발도상국에서는 여성암 중 1위를 차지하고 우리나라에서도 가장 흔한 여성 생식기 암으로 자궁암에 대한 예방 및 치료차원에서의 연구가 활성화되어야 한다는 것이 보건학적 및 예방 의학적으로 매우 중요한 의미를 지닌다.[7] 다행히도 자궁경부암은 뚜렷한 전구병변이 존재하고 있으며, 이 전구병변 단계에서 비교적 긴 기간에 걸쳐 침윤암으로 진행할 뿐 아니라 선별검사로 비교적 간단한 자궁경부 세포진 검사를 널리 이용하여 조기에 발견할 수 있고 전구병변에 대한 효과적인 치료가 존재하여 비교적 쉽게 전암병변단계에서 병을 완치할 수 있다. 그러나 만일 이러한 자궁경부암의 조기진단을 통한 방법이 아닌, 실제로 자궁경부암을 예방할 수 있는 방법, 즉 자궁경부암의 발병률을 낮출 수 있는 어떤 역학적 및 예방적인 방법이 있다면 이는 국민보건적, 예방의학적인 측면에서 매우 바람직한 일이 될 것이며 치료의 의학에서 조기진단의 의학을 거쳐 예방의 의학으로 나아가는 의료의 방향에도 부합하는 일이 될 수 있을 것이다.

이를 위해서는 자궁경부암의 역학 및 원인에 대해 알아보는 것이 필요하다. 분명히 인유두종 바이러스의 역

할이 자궁경부 상피세포에서의 종양생성과정에서 필요불가결한 요소라는 주장은 현재 정설로 받아들여지고 있으나,[8] 인유두종 바이러스 감염만으로는 자궁경부암을 초래하지는 못한다. 시애틀의 성병클리닉에 다니는 환자의 코호트 연구에서, 인유두종 바이러스에 감염된 환자의 약 28%만이 자궁경부 상피내 종양이 생긴다 하며,[9] 이 결과로 볼 때 다른 인자들, 예를 들면 흡연이나 산화적 스트레스 혹은 체내 항산화체계의 약화등이 인유두종 바이러스 감염상태에서 자궁경부 상피내 종양으로 진행되는 과정을 조절한다는 주장이 가능하다. Potischman 등은 혈장내의 비타민, 특히, carotenoids, ascorbate, retinol 등이 농도가 통계학적으로 유의하게 자궁경부암 환자의 혈장에서 정상 대조군에 비해 감소되어 있다고 주장하였으며,[3] 그 밖의 여러 연구들에서도 자궁경부암이나 자궁경부 상피내 종양 환자의 혈장에서 정상 대조군에 비해 항산화체계에 관여하는 다양한 비타민의 농도가 감소되어 있음을 주장하였다.[4-10] 그러나 이전의 연구들은 항산화체계에 관여하는 비타민의 혈장 농도를 제한적으로 연구한 것이 많았고 또 다른 항산화체계의 일원인 항산화효소등의 역할이나 자궁암 환자에서의 근본적인 산화스트레스 정도에 관해 연구한 논문은 아직 없었으며 더욱이 한국여성을 대상으로 한 연구는 아직 시도된 바 없었다.

본 연구에서 HPLC system을 사용하여 혈장 농도를 측정한 항산화 비타민은 provitamin A, carotenoids인 β-carotene, cryptoxanthine, non-provitamin A carotenoids인 zeaxanthine, lycopene, lutein, 및 α-tocopherol, γ-tocopherol 등의 지용성 항산화비타민과 수용성 항산화비타민인 ascorbate였다. 전체적으로 환자군과 대조군으로 크게 대상군을 나누었을 때, 환자군에서의 항산화계에 관여하는 비타민의 혈장 농도는 대조군에서의 농도보다 다양한 정도로 떨어지는 양상을 보여주었으며 lutein, β-carotene, lycopene, zeaxanthine의 경우는 통계학적으로 유의한 차이를 보였다. Provitamin A 이면서 자체의 독특한 항산화 작용을 나타내는 β-carotene은 세포분화 과정에 영향을 주어 이상세포가 생기는 것을 막는 것으로 알려졌으나 lycopene이나 zeaxanthine등의 그 밖의 carotenoids의 항산화 작용에 의한 보호작용 기전에 관해서는 구체적으로 알려지지 않았다.[3] 혈장 lutein 및 α-tocopherol 농도가 Palan 등이 발표한 바와 같이 U-shaped curve를 그리고 있는 것은[5] 비록 그 차이가 통계학적으로 유의한 차이는 아니지만 주목할 만 하다. α-tocopherol의 경우는 Potischman 등도 같은 소견을 보고한 바 있다.[3] 몇몇 논문들이 자궁경부암에서의 영양학적 원인들은 종양형성과정에서의 초기에서는 영향을 주나 비교적 후기, 침윤성 자궁경부암으로 발전한 다음에는 큰 영향이 없다고 하였으며,[3,11-14] 본 연구의 결과에서도 영양학적 요소들은 대개 정상 대조군에서 자궁경부 상피내 종양에 이르는 단계에서는 통계학적으로 유의한 하강변화가 있었으나 자궁경부 상피내 종양에서 침윤성 자궁경부암으로 이행하는 단계에 있어서는 변화가 그리 크지 않았으며 침윤성 자궁경부암의 발생 이전에 선행되어 항산화체계의 변화가 있는 것으로 보인다. 또한, 영양학적 요소들은 침윤성 자궁경부암의 예후인자들과 통계학적으로 유의한 연관관계를 보이지 않아 아직 환자의 생존율 분석이 이루어지지 않은 상태지만 환자의 예후와 혈장 비타민 농도와는 연관관계가 없을 것으로 추측할 수 있다. 아마도 이 항산화계에 관여하는 지용성 비타민들은 지질 과산화물의 chain-propagating lipid peroxyl 및 alkoxyl radical intermediate에 대해 수소 원자를 주어 연쇄반응을 중단시키고 peroxyl 라디컬을 원래의 산화되지 않은 지질로 돌려줌으로써 단백질, 지질 및 DNA에 대한 손상을 방지하고 또한 과산화물에 의한 면역체계의 약화를 방지함으로써 종양생성과정의 초기단계에서의 숙주의 방어를 강화시키는 것으로 보인다.[16]

하지만 아직 이 소견들이 각각의 영양소 섭취가 부족한 사람에게서 자궁경부 종양이 잘 발생할 수 있다는 인과관계를 입증할 수는 없다. 본 연구에서는 인유두종 바이러스나 환자의 흡연습관등과 같이 결과에 영향을 줄 수 있는 교란변수가 제거되지 않았으며 종양형성과정에서 일어나는 어떤 항산화체계와 지질 과산화작용의 균형의 변화 때문에 이런 소견이 나타나는지 아니면 섭취부족이나 대사과정의 문제로 인해 나타나는 소견인지는 알 수 없기 때문이다. 본 실험에서는 생체 내에서 제2차 항산화작용을 나타내는 glutathione peroxidase 활성 및 산화적 스트레스 정도를 MDA 농도 측정을 통해 알아봄으로써 혈장 항산화계의 문제를 연구하여 인과관계를 입증하는데 도움을 얻고자 하였다. Glutathione peroxidase는 각종 지질 과산화물등의 유기성 과산화수소를 해독하는데 관여하는 고전적인 셀레늄계 효소이며 malondialdehyde는 지질 과산화과정에서 부산물로 생기는 알데하이드적인 중간산물로서 산화적스트레스에 지질 과산화정도를 알아보는 지표로 쓰인다.[15] 정상 대조군에 비해 glutathione peroxidase는 자궁경부 상피내 종양 및 침윤성 자궁경부암에서 통계적으로 유의하게 활성도가 떨어져 있었으나 침윤성 자궁경부암과 자궁경부 상피내 종양 사이에서 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았고, malondialdehyde의 경우는 대조군에 비해 자궁경부 상피내종양 및 침윤성 자궁경부암의 경우 그 농도가 증가하는 것으로 확인되었다. 이는 대조군에 비해 환자군에서 항산화계의 약화 및 과산화물의 과생산을 시사하는 소견으로, 자궁경부 상피내종양과 침윤성 자궁경부암의 비교에서는 그 차이가 통계적인 차이가 없거나 오히려 자궁경부 상피내종양에서 과산화물의 과생산이 더 있는 것으로 보이

나 이 결과들은 여러 비타민 수치의 변화와 관련되어 항산화체계 및 산화스트레스의 변화가 종양생성 초기단계에서의 그 역할을 보여주는 것으로 생각된다. 따라서 바이러스 감염에 의한 염증이나 흡연의 영향, 기타 알려지지 않은 여러 가지 원인에 의해 생겨난 과산화물들이 정상적인 조건에서 다 해독하지 못할 정도로 과량으로 생겨나거나 혹은 항산화체계가 약화됨으로써 체내에서의 pro-oxidation과 anti-oxidation의 균형이 깨져 보다 많은 oxidative stress를 주게 되고 이 과정에서 과산화물의 해독에 관여하는 이들 비타민의 농도가 감소하는 것으로 추측할 수 있다. Nagata 등이 retinol이나 carotenoids를 많이 섭취하는 사람이 통계학적으로 의미있는 차이는 없으나 오히려 그렇지 않은 사람에 비해 자궁경부종양이 많이 생기는 경향이 있다고 주장하면서 아마도 환자군에서 혈장 retinol이나 carotenoids가 감소하는 현상은 종양 형성과정에 있어서의 원인이라기보다는 결과쪽일 수 있다고 하였던 것은 이 소견을 뒷받침해 줄 수 있는 주장이다.[4] 자궁경부암 예방에 대한 항산화 비타민 섭취의 효과는 많은 역학 연구 결과에서 보호적인 역할이 있는 것으로 알려지고 있으나,[17] 복합체인 식품으로써가 아닌 정제된 단일 항산화 물질 섭취를 통한 효과에 대한 결론은 복용량을 중심으로 한 충분한 검토가 필요한 분야로 아직까지는 논란의 여지가 많다. 예를 들어 Giuliano등이 1998년 발표한 바에 따르면 비록 영양학적 불균형이 환자의 혈장에서 발견되지만 현재 시도되고 있었던 5개의 영양학에 기본을 둔 phase III chemoprevention 연구에서 topical retinoic acid trial 에서만 만족할만한 결과를 얻었다.[18]

결론적으로, 대조군에 비해 침윤성 자궁경부암을 포함한 자궁경부종양 환자군에서 항산화체계에 관여하는 지용성 비타민인 lutein, β-carotene, lycopene, zeaxanthine등의 카로티노이드계 비타민과 α-tocopherol, γ-tocopherol 및 glutathione peroxidase, malondialdehyde 농도가 통계학적으로 의의 있는 변화를 보여 자궁경부 종양형성과정에서 혈장 항산화계의 변화가 어떤 역할을 한다고 유추할 수 있었다. 이들의 침윤성 자궁경부암에서의 예후인자로서의 가치는 통계적으로 입증할 수 없었는데, 앞으로 조금 더 많은 예를 대상으로 연구가 이루어져야 할 것으로 생각되었다.

- 참고문헌 -

1. 한국 중앙암등록본부, 보건복지부. 한국 중앙암등록사업 연례보고서 (1999.1-1999.12).
2. Palefsky JM, Holly EA. Molecular virulogy and epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1995; 4: 415-28.
3. Potischman N, Brinton LA. Nutrition and cervical neoplasia. Cancer Causes Control 1996; 7: 113-26.
4. Nagata C, Shimizu H, Higashiiwai H, Sugahara N, Morita N, Komatsu S, et al. Serum retinol level and risk of subsequent cervical cancer in cases with cervical dysplasia. Cancer Invest 1999; 17(4): 253-8.
5. Palan PR, Mikhail MS, Goldberg GL, Basu J, Runowicz CD, Romney SL. Plasma levels of β-carotene, lycopene, canthaxanthin, Retinol, and α- and γ- tocoperol in cervical intraepithelial neoplasia and cancer. Clin Cancer Res 1996; 2: 181-5.
6. Peng YM, Peng YS, Childers JM, Hatch KD, Roe DJ, Lin Y, et al. Concentrations of carotenoids, tocopherols, and retinol in paired plasma and cervical tissue of patients with cervical cancer, precancer, and noncancerous diseases. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1998; 7(4): 347-50.
7. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the world-wide incidence of eighteen major cancers in 1985. Int J Cancer 1993; 54: 594-606.
8. zur Hausen H. Human pathogenic papillomaviruses. Heidelberg, Germany: Springer Verlag, 1994.
9. Koutsky LA, Holmes KH, Critchlow CW, Stevens CE, Paavonen J, Beckman AM, et al. A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomaviris infection. N Eng J Med 1992; 327: 1272-8.
10. VanEenwyk J, Davis FG, Bowen PE. Dietary and serum carotenoids and cervical intraepithelial noeplasia. Int J Cancer 1991; 48: 34-8.
11. Herrero R, Potischman N, Brinton LA, Reeves WC, Brenes MM. Tenorio F, et al. A Case-control study of nutrient status and invasive cervical cancer. Am J Epidermiol 1991; 134: 1335-46.
12. Palan PR, Chang CJ, Mikhail MS, Ho GY, Basu J. Romney SL. Plasma concentration of micronutrients during a nine-month clinical trial of β-carotene in women with precursor cervical cancer lesions. Nutr Cancer 1998; 30: 46-52.
13. Knekt P. Serum vitamin E level and risk of female cancers. Int J Epidemiol 1988; 17: 281-6.
14. Batieha AM, Armenian HK, Norkus EP, Morris JS. Serum micronutrients and the subsequent risk of cervical cancer in a population-based nested case-control study. Cancer Epidermiol Biomarkers Prev 1993; 2: 335-9.
15. Thomas JP, Girotti AW. Role of lipid peroxidation in hematoporphyrin derivative-sensitized photokilling of tumor cells : Protective effects of glutathione peroxidase. Cancer Res 1989; 49: 1682-6.
16. Wiseman H. Dietary influences on membrane function : Importance in protection against oxidative damage and disease. J Nutr Biochem 1996; 7: 2-15.
17. VanEenwyk J, Davis FG, Colman N. Folate, vitamin C and cervical intraepithelial neoplasia. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1992; 1(2): 119-24.
18. Giuliano AR, Gapstur S. Can cervical dysplasia and cancer be prevented with nutrients? Nutr Rev 1998; 56: 9-16.

=국문초록=

목적 : 본 연구의 목적은 정상 대조군과 자궁경부 종양환자에서의 혈장 항산화체계와 산화적 스트레스 정도를 측정하고 이들의 변화와 자궁경부암의 예후 인자와의 연관관계를 알아보기 위한 것이다.

대상 환자 및 방법 : 2000년 11월에서 2001년 1월에 걸쳐 정상 대조군 90명과 자궁경부종양 환자군 90명의 혈액을 채취하여 혈장 항산화체계의 변화를 측정하였다. 혈장 항산화 비타민 농도는 HPLC system을 사용하여 측정하였고 항산화 효소인 glutathione peroxidase의 활성도는 coupled enzyme procedure를 통하여 측정하였다. 또한, 산화스트레스 정도를 지질과산화 정도의 측정지표인 혈장 malondialdehyde농도로써 나타내었다. 이상의 결과를 자궁경부암의 여러 가지 예후인자들과 연관성을 알아보았다.

결과 : 여러 가지 영양소들 중 carotenoids (lutein, β-carotene, lycopene, zeaxanthin)와 glutathione peroxidase의 활성도는 정상 대조군에 비하여 자궁경부 종양 환자군에서 낮았고 malondialdehyde의 농도는 자궁경부종양 환자군에서 높은 결과를 보였다. 그러나 자궁경부상피내종양과 자궁경부암 환자군과의 비교에서는 α-tocopherol만이 자궁경부암 환자군에서 의미있는 감소치를 보였고 malondialdehyde 치는 오히려 자궁경부상피내종양 환자에서 높은치를 보였다. 또한 혈장항산화 체계의 변화는 자궁경부암의 예후인자들과 의미있는 상관관계를 보이지 않았다.

결론 : 자궁경부 종양환자와 정상 대조군 사이에서 산화적 스트레스의 정도가 유의하게 차이가 있는 것으로 나타났고 혈장 항산화체계의 구성요소 중 항산화 비타민과 항산화 효소의 활성에서 유의한 변화가 관찰되어 자궁경부 종양의 형성과정에 있어서 이들의 변화가 영향을 줄 수 있을 것으로 생각되나 이들의 변화가 침윤성 자궁경부암의 예후인자와는 관련성을 보이지 않았다.

중심단어 **: 자궁경부종양, 혈장 항산화체계, 산화적 스트레스**